

**Zum Vorkommen von Opiatrezeptoren
im Myometrium des Rindes**

Regine Pflüger

*Duss München
1984*

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München

Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse

ZUM VORKOMMEN VON OPIATREZEPTOREN
IM MYOMETRIUM DES RINDES.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Regine Pflüger
aus
München

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. M. Rüsse

Korreferent: Priv.Doiz. Dr.Dr.habil. H. Nohl

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

Meinen Eltern

und all denen, die niemals
eine Chance auf eine quali-
fizierte berufliche Ausbil-
dung erhalten haben



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG.....	2
LITERATUR.....	3
MATERIAL UND METHODIK.....	14
ERGEBNISSE.....	19
DISKUSSION.....	33
ZUSAMMENFASSUNG.....	38
SUMMARY.....	39
LITERATURVERZEICHNIS.....	40
LEBENS LAUF	

EINLEITUNG

Die endogenen Opioiden wurden 1975 von J. HUGHES et al. in Gehirn und Hypophyse entdeckt. Es handelt sich dabei um endogen gebildete Peptide, die in zentralen und peripheren Geweben mit Opiatrezeptoren reagieren. In weiteren Untersuchungen wurden verschiedene Opioiden auch im Magen-Darm-Trakt, dem autonomen Nervensystem (HUGHES et al., 1977), in Placentagewebe und Amnionflüssigkeit (NAKAI et al., 1978; LIOTTA u. KRIEGER, 1980; HOUCK et al., 1980; RAMA SASTRY et al., 1980; KIMBALL et al., 1981) gefunden.

Zum Nachweis des funktionellen Einflusses der endogenen Opioiden in verschiedenen Organsystemen dienen vor allem die spezifischen Opiatantagonisten Naloxon und Naltrexon. Im Rahmen von Untersuchungen über ihre Wirkung bei postpartalen Kühen konnte ein deutlicher Einfluß auf den Uterustonius festgestellt werden. Diese unvermutete Wirkung der Opiatantagonisten auf das Myometrium soll in der vorliegenden Arbeit am hochgraviden Uterus in vitro untersucht werden, um eventuell eine Erklärung des beobachteten Phänomens zu finden. Im Weiteren wurde die Übertragbarkeit der Versuche auf eine geeignete Versuchstierspezies getestet.

LITERATUR

Die Uteruswand des Rindes besteht wie die meisten Hohlorgane aus der das Lumen auskleidenden Schleimhaut, dem Endometrium, den daran angrenzenden Muskelschichten, dem Myometrium, und dem serösen Überzug, dem Perimetrium. Das Myometrium selbst setzt sich zusammen aus einer inneren sehr kräftigen Quermuskelschicht und einer äußeren meist schwächeren Längsmuskelschicht.

Während der Gravidität finden vor allem Veränderungen in der Muskelschicht statt, die eine Anpassung an die gegebenen Anforderungen ermöglichen. Durch den zunehmenden Dehnungsreiz und den Einfluß von Progesteron findet eine Vermehrung, vor allem aber ein starkes Wachstum der einzelnen Muskelzellen statt. Im nicht graviden Zustand haben die Myometriumzellen des Rindes eine Länge von 11 - 150 μ und eine Breite von 3 μ (RICHTER, 1978). Bereits im 5. Trächtigkeitsmonat ist ihre Länge auf das Sechsfache, ihre Breite auf das doppelte angestiegen.

Der Einfluß der Sexualhormone erfolgt über intrazelluläre hormonspezifische Rezeptoren. Nach Kontakt mit einem passenden Reaktionspartner lösen diese Rezeptoren über den Zellkern die Synthese kontraktiler Proteine aus. Durch die ständig im Blut vorhandenen Östrogene wird auf diesem Weg die Kontraktionsfähigkeit des Myometriums aufrechterhalten. Progesteron hingegen unterdrückt während der gesamten Gravidität die Auslösung der Kontraktionen.



Diesem sogenannten Progesteronblock (CSAPO, 1973) steht der durch das ständig steigende Volumen des Uterusinhaltes zunehmende Dehnungsgrad des Myometriums gegenüber. Bei der Ratte wird die Dehnungsfähigkeit der Uteruswand im letzten Graviditätsdrittel zu etwa 80% ausgenützt und bis zur Geburt hin vollständig aufgebraucht. In vitro lassen sich in allen Reproduktionsstadien durch maximale Dehnung Spontankontraktionen auslösen. Diese sind dadurch gekennzeichnet, daß sie von einem niedrigen Tonusniveau ausgehend eine hohe Amplitude und große Regelmäßigkeit aufweisen. Diese Aktivität kann einerseits durch Indometacin blockiert werden (GERHEISER, 1976), andererseits steigert Dehnung die Prostaglandinsynthese in der Myometriumzelle (POYSER et al., 1971). Dies legt nahe, daß die PG-Synthese mit der Entstehung der Spontanaktivität durch mechanischen Einfluß in Zusammenhang stehen könnte.

Exogen zugeführtes PG ruft in allen Reproduktionsstadien eine kontraktile Antwort des Uterus hervor, die sich jedoch unter vollem Progesteronblock auch bei hohen PG-Dosen auf einen leichten Tonusanstieg beschränkt (CSAPO et al., 1971b). Somit steigt die Sensibilität des Uterus für PG gegen Ende der Trächtigkeit deutlich an.

Die für das Einsetzen der Spontankontraktionen notwendige maximale Dehnung wird in vivo vermutlich durch die Relaxinwirkung erreicht, die das Kollagengerüst des Uterusbindegewebes umbaut und auflockert.

Die neurale Regulation der Myometriumaktivität erfolgt über das autonome Nervensystem. Cholinerge Fasern erreichen nur die Blutgefäße des Uterus. Nur bei der Ratte werden auch die Myometriumzellen von parasymphatischen Nerven innerviert (ADHAM, 1969). Somit bleibt der Einfluß des vegetativen Nervensystems auf die Uterusmuskulatur auf die adrenerge Innervation beschränkt. Noradrenalin, als postganglionärer sympathischer Neurotransmitter, reagiert unabhängig vom Reproduktionsstadium im Myometrium des Rindes vorwiegend mit α -Rezeptoren. Adrenalin dagegen, das in bestimmten Situationen von der Nebenniere freigesetzt wird, reagiert während der Gravidität und Geburt vorwiegend mit β_2 -Rezeptoren (STEINER, 1972).

Einen Hinweis auf einen weiteren Faktor bei der Regulation der Uterusmotorik ergaben die Untersuchungen von EHRENREICH et al. (unveröffentlicht). Bei Kühen im Frühpuerperium wurde nach Applikation des Opioidantagonisten Naltrexon eine Steigerung der Myometriumaktivität gemessen. Die gleichzeitige Messung des Oxytocinplasmaspiegels zeigte, daß die beobachtete Uteruswirkung offensichtlich nicht über einen Anstieg der Oxytocinausschüttung erfolgt. Daraus schlossen die Untersucher, daß in dieser Reproduktionsphase ein direkter opioidabhängiger Hemmechanismus an der Kontrolle der Uterusaktivität beteiligt sein könnte.

Abgesehen von den Einflüssen endogener Opiode auf die zentrale hormonelle Steuerung der Fortpflanzung gibt es bis heute nur wenige Untersuchungen, die Klarheit in ihre Rolle

im peripheren Reproduktionsgeschehen bringen. Einen ersten Hinweis auf eine periphere Beteiligung an Gravidität und Geburt erhielt man zunächst durch Untersuchungen des Plasmaspiegels von Endorphinen und seiner Schwankungen während der Schwangerschaft des Menschen.

Bei Frauen konnte ab dem Beginn des zweiten Schwangerschaftsdrittels eine erhöhte Plasmaimmunoreaktivität für β -Endorphin festgestellt werden (AKIL et al., 1979). Bei anderen Untersuchungen hingegen trat dieser Anstieg erst im Verlauf des letzten Drittels mit einem Maximum zum Zeitpunkt der Geburt und einem starken Abfall 2 Tage p.p. auf (PILKINGTON et al., 1983). Neben einem kontinuierlichen Anstieg von β -Endorphin während der gesamten Schwangerschaft verzeichneten GENAZZANI et al. (1981) erhöhte β -Lipotropin (β -LPH)-Werte in der zweiten Hälfte. Beide Konzentrationen erreichten direkt im Anschluß an die Geburt ein absolutes Maximum.

Bei der Untersuchung des Plasmaspiegels der β -Endorphinimmunoreaktivität während des Geburtsverlaufes wurde übereinstimmend ein starker Anstieg erst mit Beginn der Austreibungsphase gemessen (CSONTOS et al., 1979; FLETCHER et al., 1980; GOLAND et al., 1981; KIMBALL et al., 1981), der kurz nach der Geburt seinen Höhepunkt fand. Ob diese endogenen Opiode hypophysären oder plazentaren Ursprungs sind, ist nicht eindeutig geklärt. Doch legt der von KIMBALL et al. (1981) in postpartaler Plazentagewebsflüssigkeit gemessene hohe Spiegel eine dortige Bildungsstelle nahe. So wiesen

mehrere Untersucher auch nach, daß Plazentagewebe fähig ist, β -Endorphin, β -LPH, deren gemeinsamen Vorläufer und sogar Met-Enkephalin zu bilden (NAKAI et al., 1978; LIOTTA u. KRIEGER, 1980; HOUCK et al., 1980; RAMA SASTRY et al., 1980). RAMA SASTRY et al. nehmen an, daß Met-Enkephalin analog zu anderen Geweben an der Acetylcholin-Freisetzung in der Plazenta in Form eines negativen Feedback-Systems beteiligt ist, da beide Substanzen ein gleiches Verteilungsmuster in diesem Gewebe aufweisen.

Möglicherweise auch anderen Ursprungs, eventuell aus der fetalen Hypophyse, scheinen die Endorphinkonzentrationen in der Amnionflüssigkeit zu sein, die GAUTRAY et al. (1977) vor allem bei Schweregeburten erhöht fanden. Im Gegensatz dazu konnten RISS und BIEGLMAYER (1983) keinen Zusammenhang zum Grad der Belastung des Fetus feststellen. Entsprechend den Ergebnissen von GAUTRAY et al. (1977) stellen PUOLAKKA et al. (1982) bei Schweregeburten erhöhte β -Endorphin-Werte im Nabelstrangblut fest und interpretieren dies als Steigerung der β -Endorphin-Freisetzung durch den Fetus als Reaktion auf den "Geburtsstress".

Erwähnt sei an dieser Stelle noch das Vorkommen eines endogenen Opioids, das weder identisch ist mit Endorphinen noch Enkephalinen und als "humoral endorphin" bezeichnet wird (GRANAT et al., 1980). Sowohl mütterlicher als auch Nabelstrangblutspiegel bleiben unverändert während Gravidität und Geburt, lediglich die Konzentration in der Amnion-

flüssigkeit ist während des mittleren Drittels angehoben, was GRANAT et al. (1980) als "Unreife" der fetalen Freisetzungs- und Regulationsmechanismen für Opioide interpretieren.

Bis heute liegen noch keinerlei Untersuchungen vor, die sich mit der Wirkung und Bildung von Opioiden im Myometrium selbst beschäftigen, obwohl die Kontrolle dieses Muskels einerseits bei der Erhaltung einer Gravidität und andererseits bei der Geburt von Bedeutung ist.

Ausführliche Untersuchungen im Rahmen der Wirkung von endogenen Opioiden liegen an glatten Muskelzellen des Verdauungstraktes vor. In verschiedenen Arbeiten wurde das Vorkommen von Enkephalinen und Endorphinen zum einen in endokrinen Zellen und zum anderen in Nervenzellen und -fasern des Magen-Darm-Kanals verschiedener Spezies mittels immunohistochemischer Methoden aufgezeigt (HUGHES et al., 1977).

Bei den Untersuchungen an glatten Muskelzellen des Verdauungstraktes wird gewissermaßen als klassisches Präparat das Ileum des Meerschweinchens verwendet. Hieran wurden auch die meisten Untersuchungen über die Wirkung von Morphinen und Opioiden durchgeführt. Das Meerschweinchenileum reagiert auf elektrische Reizung mit Kontraktionen, an denen die Opioidwirkungen nachweisbar sind. Met-Enkephalin hemmt diese Kontraktionen. Dies wird einerseits auf eine Hemmung der ACh-Freisetzung (WATERFIELD et al., 1977), andererseits auf eine Beeinflussung der Freisetzung von Substanz P (GINTZLER u.

SCALISI, 1982) zurückgeführt. Auch direkte Muskelwirkungen werden diskutiert (ROZE u. DUBRASQUET, 1983).

Aus der Perfusionsflüssigkeit eines Meerschweinchenileum-Plexus-Myentericus-Präparates konnten SCHULZ et al. (1977a) ein von diesem freigesetztes enkephalinähnliches Opioid nachweisen. Seine Konzentration nahm durch elektrische Stimulation des Präparates zu (SCHULZ et al., 1977b). Bei höherfrequenter Stimulation erhält man eine vorübergehende, mit Naloxon als klassischem Opioidantagonisten aufzuhebende Hemmung der Kontraktionen. Diese Hemmung wird offensichtlich durch eine erhöhte Enkephalinfreisetzung hervorgerufen, wobei letztere wiederum die ACh-Freisetzung hemmt (PUIG et al., 1977).

Mehr der physiologischen Aktivität entspricht die Auslösung von peristaltischen Wellen durch intraluminale Drucksteigerung. Diese Kontraktionsform läuft gleichmäßig weiter, solange der erhöhte Druck beibehalten wird, unterliegt jedoch einer allmählich eintretenden Ermüdung. Met-Enkephalin hemmt in dosisabhängiger Weise die peristaltische Aktivität, da diese durch Naloxon antagonisierbar ist (VAN NUETEN et al., 1977). Die Enkephalinwirkung ist in gewisser Weise vergleichbar mit der spontanen Verlangsamung der peristaltischen Wellen ermüdeter Präparate, deren Perfusionslösung bemerkenswerterweise auch "frische" Präparate zu hemmen vermag. Dieser Effekt wiederum ist mit Naloxon aufzuheben.

(-)Naloxon allein appliziert steigert auf der einen Seite die Frequenz der peristaltischen Wellen und verkürzt zusätzlich bei intermittierender Peristaltik die Dauer kontraktionsfreier Intervalle (KROMER u. PRETZLAFF, 1979). Nach neueren Untersuchungen (KROMER et al., 1980) kann Naloxon sogar das Auftreten von Kontraktionspausen vollständig aufheben. Weder Gravidität der Versuchstiere noch verlängerte Arbeit der Ileumpräparate hatten bei diesen Untersuchungen einen zusätzlichen Einfluß auf die Gesamtkontraktionsleistung. Daraus ziehen KROMER et al. (1980) den Schluß, daß Darmopioide an der Kontrolle der normalen Darmperistaltik beteiligt sind, und nicht erst, wie VAN NUETEN et al. (1977) annehmen, unter besonderen in vivo oder in vitro Umständen, wie Gravidität oder Ermüdung, aktiviert werden.

Die nach Naloxongaben beobachtete Peristaltiksteigerung ist ausgeprägter am Ileum als an Jejunum oder Duodenum (KROMER et al., 1981). So könnte man annehmen, daß ein opioidabhängiger Hemmechanismus in aboraler Richtung zunehmendermaßen für die beobachtete peristaltische Aktivität verantwortlich ist. Ein weiterer Hinweis auf die Beteiligung endogener Opioiden an der Peristaltikhemmung stammt von CLARK und SMITH (1981): Die Freisetzung von Met-Enkephalin durch das ruhende Meerschweinchenileum in vitro stagniert nach Auslösung peristaltischer Wellen durch intraluminale Drucksteigerung, d.h. die Motorik selbst beendet den hemmenden Einfluß des Enkephalins.

In der Verteilung von Opiatrezeptoren wurden tierartliche Unterschiede beobachtet. Met-Enkephalin löst am Rattenduo-

denum eine vorübergehende, nicht neural vermittelte Relaxation aus. Das Meerschweinchenduodenum reagiert dosisabhängig entweder mit einer Relaxation oder mit rhythmischen Kontraktionen, die hier hingegen neuronal gesteuert zu sein scheinen (FURUKAWA et al., 1980).

Nicht nur am Dünndarm wurde der Einfluß endogener Opiode auf die Aktivitätsregulation nachgewiesen, auch der Dickdarm von Meerschweinchen und Ratte reagiert deutlich auf Enkephaline und Endorphine. Während Colon und Rectum bei der Ratte mit einer Kontraktion antworten, reagieren sie beim Meerschweinchen biphasisch, d.h. mit einer anfänglichen kurzen Kontraktion und anschließender Entspannung (NIJKAMP u. VAN REE, 1980). Doch scheint die Empfindlichkeit der unterschiedlichen Darmteile nicht in Bezug zu stehen zu ihrem endogenen Gehalt an Opioiden.

Morphin und Enkephaline, sowie deren synthetisches Analogon FK-33-824 (SCHEURER et al., 1981) bewirken am isolierten Rattencolon eine tonische Kontraktion (HUIDOBRO-TORO u. WAY, 1981). In höheren Konzentrationen hemmen sie die kontraktile Antwort (GILLAN u. POLLOCK, 1980) auf elektrische Stimulation. Die exzitatorische Wirkung der Opiate führen GILLAN und POLLOCK (1980) eher auf eine direkte Muskelwirkung oder eine präsynaptische Hemmwirkung auf Ganglienebene in einem nicht adrenergen Mechanismus zurück, der normalerweise die myogene Aktivität unterbindet. Dagegen ziehen HUIDOBRO-TORO und WAY (1981) die Aktivierung von 5-Hydroxy-tryptamin-Neuronen in Betracht.

Eine Differenzierung hinsichtlich der Gewebslokalisation der beteiligten Opiatrezeptoren stammt von SCHEURER et al. (1981). Im proximalen Abschnitt des Colons können diese sowohl im Nerven- als auch im Muskelgewebe gefunden werden, während sie im mittleren und distalen Drittel nur im Muskelgewebe selbst lokalisiert sind.

BITAR und MAKHLOUF (1982) konnten an isolierten glatten Muskelzellen des Meerschweinchenmagens spezifische Opiatrezeptoren nachweisen und damit die physiologische Rolle der Enkephaline weiter erhellen. Sie vermuten, daß für die Kontrolle der Magen-Darm-Motorik eine Kombination aus direkter exzitatorischer und indirekter, neural vermittelter, hemmender Wirkung verantwortlich sind. Die direkte Wirkung würde demnach die tonische Aktivität auslösen, die indirekte die phasische oder peristaltische.

Die bisher dargestellten Arbeiten können zwar die Rolle der endogenen Opioide in der Kontraktilitätsregulation des Darmes noch nicht völlig klären, doch bieten sie Anhaltspunkte für die Suche nach ähnlichen Mechanismen in der Uterusmuskulatur.

Erste Hinweise auf eine vom Myometrium selbst produzierte an der Aktivitätsregulation beteiligte Stoffgruppe bot die Entdeckung eines unter Dehnung freigesetzten sogenannten "myogenen Hemmstoffes des menschlichen Uterus" durch JUNG und KLÖCK (1969).

Ein Teil dieser Substanzgruppe konnte identifiziert werden als das vom menschlichen graviden Myometrium während der Spontankontraktionen in kleinsten Mengen, unter Dehnung aber bedeutend stärker freigesetzte Prostaglandin E (KLÜCK u. JUNG, 1972). Zur ausreichenden Charakterisierung des von JUNG und KLÜCK (1969) beschriebenen "Uterus-Hemmstoffes", der bei diesen Untersuchungen auch die Wirkung von Oxytocin aufzuheben vermöchte, reichen aber die gefundenen PGE-Konzentrationen nicht aus.

Eine Aufhebung des hyperaktivierenden Effektes von Oxytocin am Uterus beobachteten JAFFE und MARTIN (1975) nach Applikation von Morphin bei Frauen.

Ausgehend von der beobachteten Uteruswirkung nach Naloxonapplikation beim Rind (EHRENREICH et al., unveröffentlicht) sollte in der vorliegenden Arbeit eine eventuelle direkte periphere Wirkung des Opiatantagonisten am Myometrium in vitro untersucht werden. Die beschriebenen Naloxoneffekte an den glatten Muskelzellen des Magen-Darm-Traktes unterstützen die Annahme ähnlicher Mechanismen in der Uterusmuskulatur. In zahlreichen Arbeiten wird auf die Aktivierung verschiedener opioidabhängiger Systeme während der Gravidität hingewiesen. Daher wurden für die Versuche Myometriumstreifen trächtiger Kühe verwendet.

MATERIAL UND METHODIK

Rind:

Das Material für die Untersuchungen wurde am Schlachthof München von Rindern gewonnen, die sich im 7. - 9. Monat der Trächtigkeit befanden. Die Bestimmung des Graviditätsstadiums erfolgte nach der Nacken-Steiß-Länge des Feten.

Auf Grund des technischen Ablaufes bei der Bandschlachtung konnte erst ca. 30 min nach Tötung der Kühe aus der großen Krümmung des Uterus ein 20 cm langes Stück entnommen werden. Dieses wurde in Nährlösung von 20°C sofort ins Labor transportiert.

Von diesen verwendeten Myometriumstreifen wurden fünf bei Kaiserschnitten aus dem Wundrand des Uterus nach Extraktion des Kalbes gewonnen.

Bis zur Präparation hatten sich die Uterussegmente durch den Wegfall des vom Inhalt ausgehenden Dehnungseinflusses um durchschnittlich 60% verkürzt. Die Meßstreifen ($4 \times 3 \times 2 \text{ mm}^3$) wurden aus dem Stratum longitudinale einschließlich Serosa präpariert. Sie wurden an beiden Enden mit Baumwollfäden versehen, in das 10 ml fassende Organdurchlaufbad horizontal eingehängt und mit dem Meßsystem verbunden. Die Temperatur des Bades wurde über einen Thermostaten konstant bei 38°C gehalten. Die Durchlaufgeschwindigkeit der Nährlösung wurde über einen Tropfenzähler auf 2,5 ml/min eingestellt.

Die Nährlösung wurde für jeden Versuch frisch angesetzt und hatte folgende Zusammensetzung (GILLESPIE, 1962):

NaCl	133,3 mM	CaCl ₂	1,8 mM
KCl	4,7 mM	MgCl ₂	0,5 mM
NaHCO ₃	16,3 mM	Dextrose	7,7 mM
NaH ₂ PO ₄	1,37 mM		

Die Lösung wurde ständig mit Carbogen, einem Gemisch aus 95% O₂ und 5% CO₂ begast. CaCl₂ wurde erst zugesetzt, nachdem die Lösung bereits 15 min mit Carbogen durchperlt worden war, um ein Ausfallen des Salzes zu verhindern.

Ratte:

Die Myometriumstreifen wurden von Ratten (Sprague-Dawley) am 20. Tag der Gravidität gewonnen. Die Tiere wurden unter konstanten Umweltbedingungen (Temperatur: 22°C, 12 Std. Licht) gehalten. Pelletiertes Mischfutter für Labortiere und Wasser standen den Tieren zur Aufnahme ad libidum zur Verfügung.

Für die Versuche wurden die Ratten in Äthernarkose getötet, die Bauchhöhle geöffnet, der trächtige Uterus nach Abbinden beider Hornspitzen und der Cervix in toto entnommen und sofort in ein Präparierbecken mit Nährlösung verbracht. Durch Abbinden der Uterushörner zwischen jeder Ampulle konnte der zur Präparation jedes Streifens nötige Füllungs- und Spannungsgrad der Uteruswand erhalten werden. Nach Entnahme eines 10 x 5 mm² großen Streifens aus jedem Segment wurde

das Endometrium entfernt, der Streifen mittels der an den beiden Enden angebrachten Baumwollschlingen im Organbad aufgehängt und mit der Meßvorrichtung verbunden. Die Temperatur der Badflüssigkeit wurde über einen Thermostaten konstant auf 36°C gehalten.

Die Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	118,5 mM	CaCl ₂	2,5 mM
NaHCO ₃	23,8 mM	MgSO ₄	1,17mM
KCl	4,7 mM	Dextrose	5,5 mM
KH ₂ PO ₄	1,2 mM		

Die Begasung der Lösung erfolgte wie für das Rind beschrieben.

Die Kontraktionen der Myometriumstreifen wurden isometrisch mittels eines induktiven Zug- und Druckaufnehmers (HBM Q 11/10), montiert auf einem Mikroskopstativ, über einen Trägerfrequenzmeßverstärker (KWS 3071, HBM) gemessen. Auf einem Tintenschreiber (Mark 220 Recorder, Brush Instruments Division) wurden die Werte bei einem Papiervorschub von 5 mm/min registriert.

Zu Beginn jedes Versuches wurde der Muskelstreifen für eine Anpassungszeit von 20 min völlig spannungsfrei belassen. Dann wurde mittels der Mikrometerschraube die Spannung in gleichmäßigen Abständen um jeweils 40 mg (Ratte) bzw. 0,5 g (Rind) nach der Digitalanzeige des Verstärkers erhöht, bis die ersten Spontankontraktionen auftraten.

Für die Untersuchungen über den von JUNG und KLÜCK (1969) beschriebenen Hemmstoff wurde zusätzlich ein $5 \times 3 \times 0,5 \text{ cm}^3$ großes Muskelstück senkrecht in einem mit 200 ml Nährlösung gefüllten Glas aufgehängt. Die Temperatur wurde über ein Wasserbad konstant bei 38°C gehalten, während die Lösung mit Carbogen begast wurde. Das Muskelstück wurde 20 min lang einem Zug von 50 g ausgesetzt und dann aus der Nährlösung entfernt. Die Nährlösung wurde dann sofort über das Vorratsgefäß mit derselben Tropfgeschwindigkeit einem wie zuvor beschrieben präparierten Myometriumstreifen zugegeben, der sich in regelmäßigen Spontankontraktionen befand.

Naloxon wurde jeweils frisch in der benötigten Konzentration in Nährlösung gelöst und in einem getrennten Reservoir bei 20°C begast. So wurde Naloxon in steigenden Konzentrationen von 0,1, 0,2, 0,4, 0,5, 0,6, 0,8 und 1,0 mg/ml über die Perfu-sionsflüssigkeit kontinuierlich zugegeben. Da bei einer Konzentration von 0,1 mg/ml noch keinerlei Effekt zu erkennen war, wurde diese Konzentration von den weiteren Untersuchungen ausgeschlossen.

Für die Auswertung der Meßergebnisse wurden die vom Schreiber aufgezeichneten Kontraktionskurven planimetrisch vermessen. Hierbei entspricht die pro Zeiteinheit gemessene Fläche der Kontraktionsleistung. Der Basaltonus wurde an Hand von Eichlinien bestimmt, die vor dem Einhängen der Myometriumstreifen mit einer bekannten Zugbelastung aufgezeichnet worden waren.

Um die einzelnen Meßergebnisse vergleichen zu können, wurden sie auf einen gemeinsamen O-Wert bezogen. Dieser wurde für jede Meßgröße als Mittel aus den vor jeder Naloxonzugabe gemessenen Werten berechnet.

ERGEBNISSE

Rind:

Insgesamt wurden 40 Muskelstreifen präpariert und untersucht. Nur 4 Myometriumstreifen entwickelten nach schrittweiser Spannungssteigerung von selbst gleich- und regelmäßige Kontraktionen, die für die Versuchsdurchführung verwertbar waren. Bei 16 Muskelstreifen konnte nach Erreichen der kritischen Spannung erst mit der Zugabe von 10 m.U. Oxytocin am Badeinlauf die typische kontraktile Antwort und im Anschluß daran weiterlaufende regelmäßige Spontankontraktionen ausgelöst werden. Bei den restlichen 20 Myometriumsstreifen entstand jedoch weder nach weiterer Spannungssteigerung noch nach wiederholter Oxytocinapplikation eine fortlaufende Aktivität. Von den bei Kaiserschnitten gewonnenen Muskelstreifen konnten nur in einem Fall regelmäßige Spontankontraktionen ausgelöst werden.

Durchschnittlich lag der Spannungswert, bei dem mit oder ohne Oxytocin kontinuierliche Kontraktionen ausgelöst werden konnten, bei 9,8 g. Die mittlere Leistung, die während dieser Kontraktionen zu messen war, lag bei $34,0 \pm 3,9 \text{ mm}^2/\text{min}$. Die Streifen kontrahierten sich im Abstand von $2,9 \pm 1,4 \text{ min}$ mit einer Amplitude von $10,6 \pm 0,8 \text{ mm}$. Der Ruhetonus zwischen je zwei Kontraktionen lag bei $2,6 \pm 0,8 \text{ g}$.

Bei einer Zugabe von 0,4 mg Naloxon/ml Nährlösung nahm der Kontraktionsabstand um 7% auf $2,7 \pm 0,6 \text{ min}$ ab. Gleichzeitig sank die Amplitude um 38% auf $6,6 \pm 0,9 \text{ mm}$. Der Ruhetonus

zwischen den Kontraktionen lag bei dieser Konzentration mit $2,8 \pm 0,4$ g nur geringfügig über dem Ausgangswert von $2,6 \pm 0,8$ g. Durch die reziproke Änderung von Frequenz und Amplitude war die Kontraktionsleistung unverändert bei $34,0 \pm 2,3 \text{ mm}^2/\text{min}$ (Abb. 5).

Bei einer Naloxonkonzentration von 0,5 mg/ml Badflüssigkeit wurden in 80% der Fälle (bei 0,6 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit in nur 60%) die Kontraktionen völlig gehemmt. Aber auch die bei 0,6 mg Naloxon / ml Badflüssigkeit nicht gehemmten Streifen zeigten eine Verkürzung des Kontraktionsabstandes um 14% auf $2,5 \pm 0,4$ min und einen Amplitudenabfall um 58% auf $4,4 \pm 0,8$ mm. Insgesamt war der Ruhetonus auf das 2,2fache, bzw. das 1,7fache (0,6 mg Naloxon/ ml Badflüssigkeit) erhöht. Die Kontraktionsleistung war bei 0,5 mg Naloxon/ ml Badflüssigkeit mit $51,2 \pm 7,6 \text{ mm}^2$ deutlich gesteigert, bei 0,6 mg Naloxon/ ml Badflüssigkeit blieb sie fast unverändert bei $35,0 \pm 5,3 \text{ mm}^2/\text{min}$.

Eine vollständige Hemmung der rhythmischen Aktivität bei allen untersuchten Streifen trat ab einer Konzentration von 0,8 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit ein. Optisch läßt sich das Kontraktionsbild als eine sich auf einen erhöhten Basaltonus einpendelnden Schwingung beschreiben (Abb. 6). Der Basaltonus ist dabei auf das 2,6fache auf $6,8 \pm 1,2$ g angehoben, während die gesamte Kontraktionsleistung nur eine geringgradige Erhöhung um 12% auf $38,2 \pm 2,7 \text{ mm}^2/\text{min}$ zeigt.

Keine weitere Änderung der Ergebnisse erbrachte die Steigerung der Konzentration auf 1,0 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit. Jedoch reagierten einige Streifen, die bereits vor Naloxonzugabe eine sehr niedrige Kontraktionsfrequenz aufwiesen, nur mit einem Aussetzen der Kontraktionen, ohne daß davor der bereits beschriebene Frequenzanstieg und Amplitudenabfall zu beobachten gewesen wäre. Auch der Grundtonus blieb in diesen Fällen unverändert. Diese Abweichungen führen zu einem gemäß der bisher beobachteten Tonusverlaufskurve unerwarteten Abfall, d.h. einer nur geringen Steigerung des Tonus im Vergleich zum Ausgangswert um nur 38% auf $3,6 \pm 0,3$ g. Die Gesamtleistung stieg um 13% auf $38,6 \pm 5,6 \text{ mm}^2/\text{min}$ an.

Nach dem Auswaschen der mit Naloxon versetzten Nährlösung durch Wechsel des Vorratsbehälters auf normale Nährlösung kehrte in allen Fällen nach durchschnittlich 20 min (Min.: 10 min, Max.: 70 min) die kontraktile Aktivität wieder auf die Ausgangswerte vor Naloxonapplikation zurück. In niedrigen Konzentrationen bis 0,6 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit war dies gekennzeichnet durch eine Zunahme der Amplitude bei gleichzeitiger Verlangsamung der Frequenz und einem kontinuierlichen Abfall des Ruhetonus (Abb.5).

Bei Konzentrationen ab 0,8 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit, bei denen die rhythmische Aktivität völlig zum Erliegen gekommen war, traten nach Ablauf der genannten Auswaschzeit wieder regelmäßige Spontankontraktionen auf. Diese wurden eingeleitet durch einen Abfall des Tonus auf den Ausgangswert (Abb.6).

Tab. I: Wirkung verschiedener Naloxonkonzentrationen auf die Spontankontraktionen des hochgraviden Rindermyometriums.

Naloxonkonzentration mg/ml Bfl.	n	Abstand d. Kontraktionen min	Amplitude mm	Grundtonus g	Leistung mm ² /min
0	32	2,9 $\pm$ 1,4*	10,6 $\pm$ 0,8	2,6 $\pm$ 0,8	34,0 $\pm$ 3,9
0,1	2	2,7 $\pm$ 0,5	10,6 $\pm$ 0	2,4 $\pm$ 0,2	33,5 $\pm$ 3,5
0,2	5	3,1 $\pm$ 0,6	9,2 $\pm$ 0,4	2,6 $\pm$ 0,1	30,2 $\pm$ 3,1
0,4	5	2,7 $\pm$ 0,6	6,6 $\pm$ 0,9	2,8 $\pm$ 0,4	34,0 $\pm$ 2,3
0,5	5	0,8 $\pm$ 0,8	2,1 $\pm$ 2,1	5,6 $\pm$ 1,2	51,2 $\pm$ 7,6
0,6	5	1,2 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 1,3	4,3 $\pm$ 1,5	35,0 $\pm$ 5,3
0,8	5	0	0	6,8 $\pm$ 1,2	38,2 $\pm$ 2,7
1,0	5	0	0	3,6 $\pm$ 0,3	38,6 $\pm$ 5,6

n: Stichprobenumfang

*: Mittelwert $\pm$ SEM

Bfl: Badflüssigkeit

Im Weiteren wurde geprüft, ob die Wirkung von Oxytocin auf Myometriumstreifen des hochgraviden Rindes durch Naloxon beeinflußt wird. 10 m.U. Oxytocin bewirken am nicht vorbehandelten Myometriumstreifen einen plötzlichen Anstieg des Ruhetonus um 46% und der Frequenz auf das 2,3fache. Die dadurch um etwa 33% reduzierte Amplitude nimmt erst wieder mit der Absenkung des Tonus zu. Die Kontraktionsleistung steigt von $34 \text{ mm}^2/\text{min}$ auf $43 \text{ mm}^2/\text{min}$.

Die Frequenz- und Amplitudenänderungen sind nur unter niedrigen Naloxonkonzentrationen zu bewerten, solange die rhythmische Aktivität noch erhalten ist. Die Zahl der Kontraktionen/10 min steigt durch Oxytocin unter dem Einfluß von 0,2 bzw. 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit auf das 2,3fache an, im Vergleich zu einer Steigerung auf das 3,3fache ohne Naloxon. Die Amplitudenhöhe wird durch Oxytocin unter Naloxoneinfluß um 21% bzw. 30% kleiner, ohne Naloxon um 33%. Oxytocin steigert den Tonus in Gegenwart von 0,2 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit um 42% bzw. 30% bei 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit, ohne Naloxon um 46%. Die relative Leistungssteigerung durch Oxytocin beträgt 26%. Bei Zugabe von 0,2 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit steigert Oxytocin die Leistung um 27%, bei Zugabe von 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit um 35%.

Der unter höheren Naloxonkonzentrationen (0,6, 0,8 bzw. 1,0 mg/ml Badflüssigkeit) nach Erlöschen der Kontraktionen angehobene Ruhetonus steigt durch Oxytocinzugabe um weitere 35, 56 bzw. 75% an und liegt somit im Rahmen der Oxytocinwirkung auf das unbehandelte Myometrium (46%)(Abb.7). In Bezug

auf die Leistungssteigerung wird diese (26%) dann unter Naloxon sogar noch übertroffen (29, 58 bzw. 77%).

Bei den Versuchen nach der von JUNG (1969) und KLÜCK (1972) beschriebene Methoden konnte durch die Zugabe der von einem gedehnten Myometriumstück erhaltenen Badflüssigkeit zu einem spontanaktiven Muskelstreifen keine erkennbare Änderung der Kontraktionen festgestellt werden. Bisweilen trat zwar eine Verlangsamung, auch ein Ausbleiben der rhythmischen Aktivität ein, dies war jedoch nicht reversibel durch Auswaschen mit normaler Nährlösung und muß daher als reine Ermüdung des Streifen angesehen werden.

Ratte:

An 10 Myometriumstreifen hochgravider Ratten wurde untersucht, ob die Zugabe von Naloxon zur Badflüssigkeit das Kontraktionsbild bei dieser Spezies ebenso beeinflußt wie beim Rind.

Nach schrittweiser Spannungssteigerung entwickelten acht der Muskelstreifen bei einer durchschnittlichen Spannung von 1,2 g gleich- und regelmäßige Spontankontraktionen mit hoher Amplitude. Der Abstand zwischen zwei Kontraktionen

lag durchschnittlich bei $1,4 \pm 0,2$ min, der Ruhetonus bei $0,20 \pm 0,12$ g. Die Kontraktionsamplitude betrug $13,3 \pm 3,7$ mm, die Gesamtkontraktionsleistung $1,0 \pm 0,2$ mm²/min.

Bei einer Konzentration von 0,2 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit waren eine deutliche Verkürzung des Kontraktionsabstandes auf $0,92 \pm 0,05$ min und eine gleichzeitige Verminderung der Amplitude auf $6,0 \pm 1,1$ mm zu verzeichnen. Der Ruhetonus betrug unverändert $0,20 \pm 0,01$ g. Die gesamte Kontraktionsleistung war mit $0,73 \pm 0,04$ mm²/min leicht vermindert im Vergleich zum Ausgangswert.

Die Zugabe von 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit verkürzte den Kontraktionsabstand weiter auf $0,52 \pm 0,04$ min und erniedrigte die Amplitude auf $6,5 \pm 0,2$ mm. Der Basaltonus war auf $0,23 \pm 0,01$ g angehoben. Die Gesamtkontraktionsleistung lag verglichen mit dem Ausgangswert nur unwesentlich höher bei $1,09 \pm 0,02$ mm²/min (Abb. 8).

Bei einer Konzentration von 0,6 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit verminderten sich bei einem der Muskelstreifen der Kontraktionsabstand auf 0,46 min und die Amplitude auf 3,6 mm. Der Ruhetonus war in diesem Fall nur leicht angehoben auf 0,24 g. Deutlich erhöht im Vergleich zum Ausgangswert war die Kontraktionsleistung mit 1,38 mm²/min. Bei den anderen Myometriumstreifen hemmte die Zugabe von 0,6 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit die rhythmische Kontraktilität vollständig. Hierbei pendelten sich die Myometriumstreifen nach einem

steten Frequenzanstieg und Amplitudenabfall auf einem auf $0,46 \pm 0,08$ g erhöhten Tonus ein. Die Kontraktionsleistung dieser Streifen stieg auf $1,42 \pm 0,16 \text{ mm}^2/\text{min}$ an (Abb. 9).

Unter der Zugabe von $0,8 \text{ mg Naloxon/ml}$ Badflüssigkeit wurden die Kontraktionen der Myometriumstreifen in der zuvor beschriebenen Weise vollständig gehemmt. Jedoch stieg dabei der Tonus erheblich stärker, nämlich auf $1,09 \pm 0,58$ g an. Damit war gleichzeitig die Gesamtleistung auf $1,83 \pm 1,05 \text{ mm}^2/\text{min}$ erhöht (Abb. 10).

Auch die Myometriumstreifen der Ratte kehrten nach dem Auswaschen der Naloxonlösung in allen Fällen wieder zu ihrer Ausgangsaktivität zurück.

Tab. II: Wirkung verschiedener Naloxonkonzentrationen auf die Spontankontraktionen des hochgraviden Rattenmyometriums.

Naloxonkonzentration mg/ml Bfl.	n	Abstand d. Kontraktionen min	Amplitude mm	Grundtonus g	Leistung mm ² /min
0	20	1,40 $\pm$ 0,20*	13,3 $\pm$ 3,7	0,20 $\pm$ 0,12	1,00 $\pm$ 0,20
0,2	5	0,92 $\pm$ 0,05	6,0 $\pm$ 1,1	0,20 $\pm$ 0,01	0,73 $\pm$ 0,04
0,4	5	0,52 $\pm$ 0,04	6,5 $\pm$ 0,2	0,23 $\pm$ 0,01	1,09 $\pm$ 0,02
0,6	5	0,10 $\pm$ 0,10	0,9 $\pm$ 0,9	0,41 $\pm$ 0,07	1,41 $\pm$ 0,13
0,8	5	0	0	1,09 $\pm$ 0,58	1,83 $\pm$ 1,05

*: Mittelwert $\pm$ SEM

n: Stichprobenumfang

Bfl: Badflüssigkeit

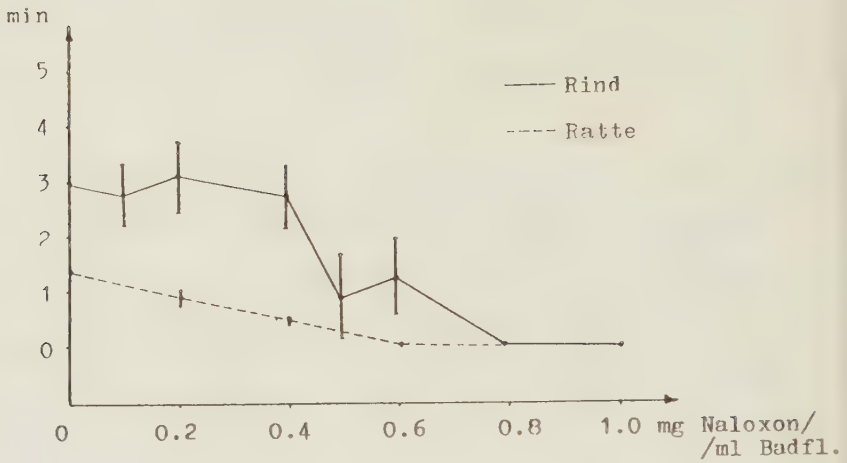


Abb. 1: Einfluß von Naloxon auf den Abstand zweier Spontankontraktionen von Myometriumstreifen hochgravider Rinder und Ratten.

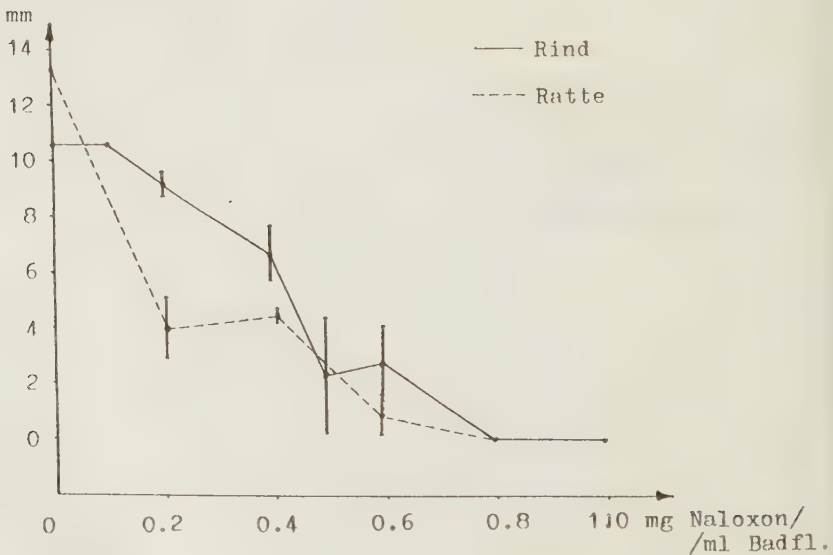


Abb. 2: Einfluß von Naloxon auf die Amplitude der Spontankontraktionen von Myometriumstreifen hochgravider Rinder und Ratten.

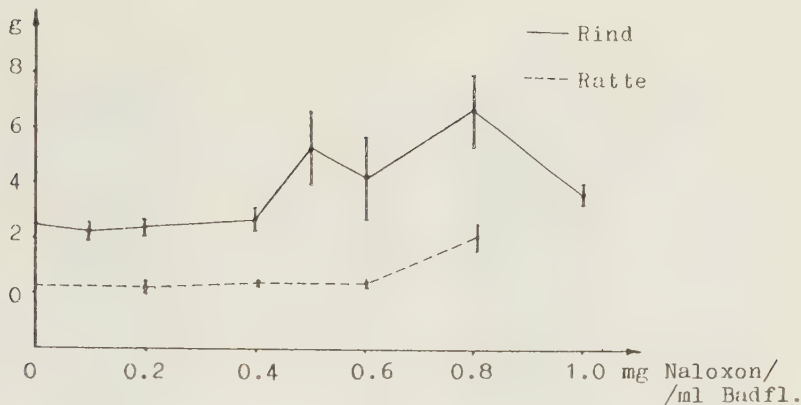


Abb. 3: Einfluß von Naloxon auf den basalen Tonus spontan-aktiver Myometriumstreifen hochgravider Rinder und Ratten.

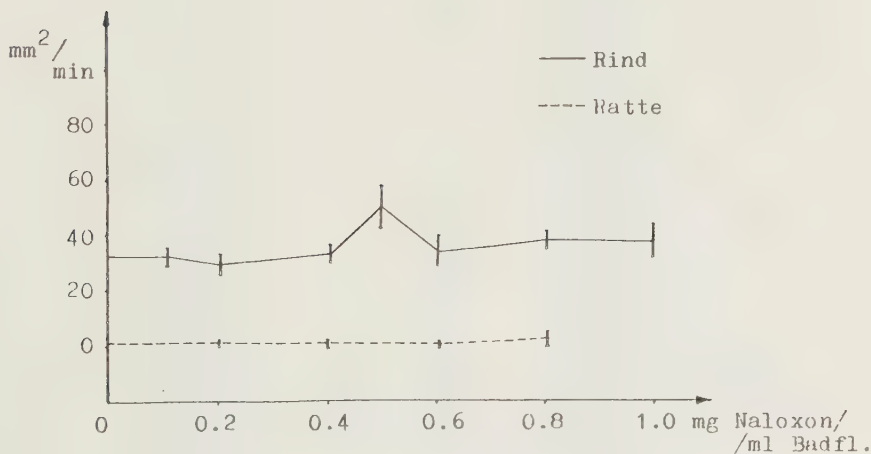


Abb. 4: Einfluß von Naloxon auf die Gesamtkontraktionsleistung spontanaktiver Myometriumstreifen hochgravider Rinder und Ratten.

Rind: Spontankontraktionen von Myometriumstreifen unter dem Einfluß von Naloxon.

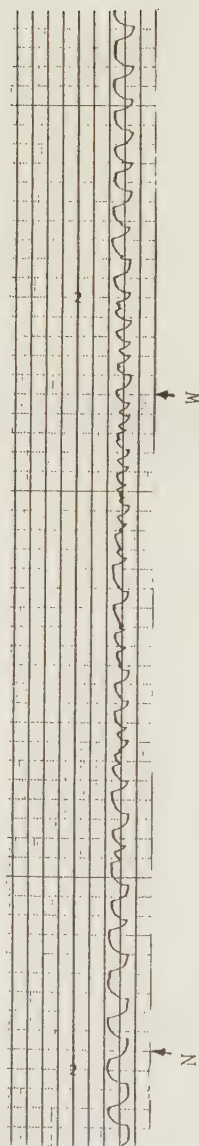


Abb. 5 : Steigerung der Frequenz und Verminderung der Amplitude bei gleichzeitiger Anhebung des basalen Tonus durch Zugabe von 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit (N). Nach dem Auswaschen der Naloxonlösung (W) Rückkehr auf die Ausgangswerte.

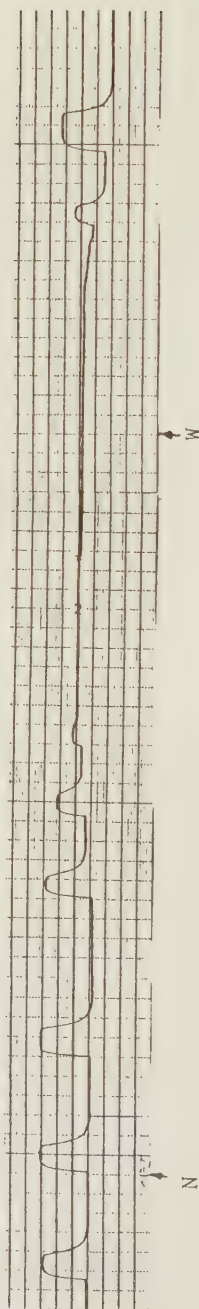


Abb. 6 : Vollständige Hemmung der Kontraktionen nach stetigem Frequenzanstieg und Amplitudenabfall auf erhöhtem Tonus bei 0,8 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit (N). Wiedereinsetzen der Kontraktionen nach Absinken des Tonus durch Auswaschen der Naloxonlösung (W).

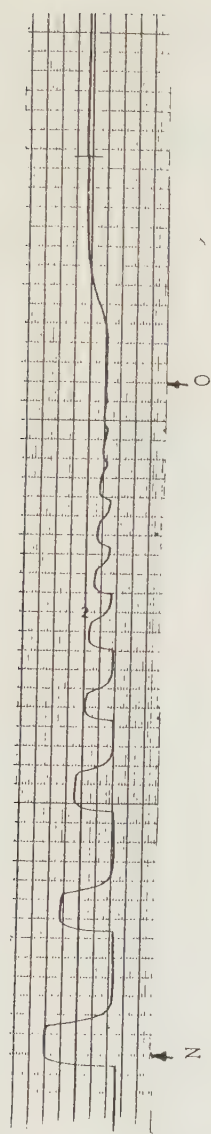


Abb. 7: Typisches "Einpendeln der Schwingungen" auf den erhöhten Tonus durch Zugabe von 0,8 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit. Deutlicher Anstieg des Tonusniveaus durch Zugabe von 10 I.m.U. Oxytocin (O).

Ratte: Spontankontraktionen von Myometriumstreifen unter dem Einfluß von Naloxon.

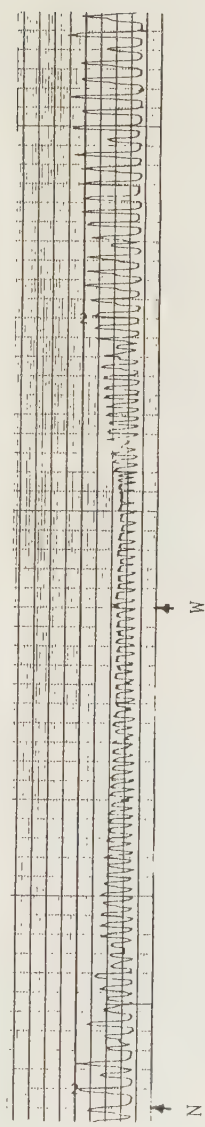


Abb. 8: Steigerung der Frequenz und Verminderung der Amplitude bei gleichzeitiger Anhebung des basalen Tonus durch Zugabe von 0,4 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit (N). Nach dem Auswaschen der Naloxonlösung (W) Rückkehr auf die Ausgangswerte.

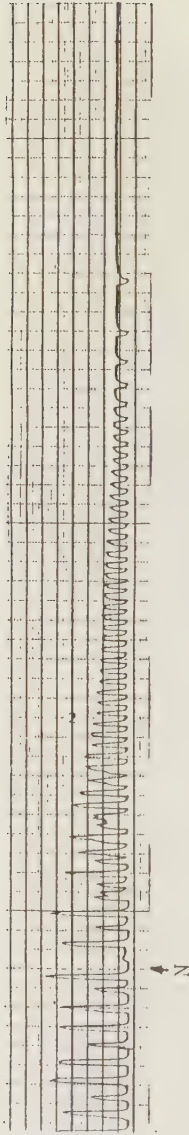


Abb. 9 : Vollständige Hemmung der Kontraktionen nach stetigem Frequenzanstieg und Amplitudenabfall bei erhöhtem Basaltonus durch Zugabe von 0,6 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit.

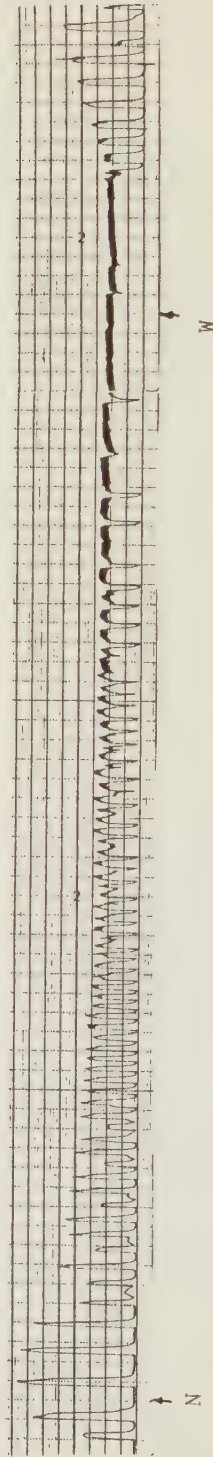


Abb. 10 : Hemmung der Spontankontraktionen auf erhöhtem Tonus durch Zugabe von 0,8 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit. Die hochfrequenten Zuckungen weisen auf die Blockade des tonussenkenden Agens hin. Nach Auswaschen der Naloxonlösung Tonusabfall und Einsetzen regelmäßiger Kontraktionen mit steigender Amplitude.

DISKUSSION

Isolierte Myometriumstreifen von Rindern und Ratten können in einem Organdurchlaufbad durch entsprechende Dehnung zu gleich- und regelmäßigen Spontankontraktionen veranlaßt werden. Durch Zugabe einer zu testenden Substanz zur Badflüssigkeit kann an der Änderung des Kontraktionsmusters ein eventueller Einfluß dieser Substanz auf die Motorik des Myometriums untersucht werden.

Naloxon ist bekannt als spezifischer Opiatantagonist. Der Einfluß dieser Substanz auf die Aktivität des hochgraviden Rindermyometriums im in vitro Versuch deutet auf die Gegenwart eines endogen gebildeten Agonisten hin, der offensichtlich an der Regulation der Kontraktilität der Muskelzellen beteiligt ist.

Die Zugabe von Naloxon steigert in Konzentration bis 0,5 mg/ml Badflüssigkeit die Frequenz, senkt die Amplitude und hebt den basalen Tonus der Spontankontraktionen des hochgraviden Rinder- und Rattenmyometriums. In höheren Konzentrationen von 0,5 - 1,0 mg Naloxon/ml Badflüssigkeit verkleinern sich Amplitude und Kontraktionsabstand so stark, daß die Kontraktionen bei gleichzeitigem deutlichen Tonusanstieg vollständig gehemmt werden. Dieser Effekt läßt sich durch Auswaschen der Naloxonlösung vollständig aufheben.

Den gefundenen Ergebnissen nach scheint ein endogenes Opioid an der Tonussteuerung des graviden Uterus von Rind und Ratte beteiligt zu sein. Ein niedriger Grundtonus erlaubt eine maximale Dehnung des Myometriums, die zur Auslösung von gleichmäßigen niederfrequenten, aber kraftvollen Spontankontraktionen führt. Da die Zugabe von Naloxon eine Verdrängung endogener Opiode aus der Rezeptorbindung bedingt, kann die unter Naloxoneinfluß beobachtete Tonussteigerung mit Erlöschen der Spontankontraktionen die Aufhebung der Wirkung eines endogenen Opioids sein.

Da die Beteiligung von endogenen Opioiden an der Motorik der glatten Muskelzellen des Verdauungstraktes nachgewiesen wurde, könnte man ähnliche Mechanismen an den glatten Muskelzellen des Myometriums vermuten.

Der Einfluß von Naloxon bewirkt im Bereich des Verdauungstraktes z.B. am Meerschweinchenileum eine Steigerung der Frequenz und der Gesamtkontraktionsleistung der peristaltischen Wellen. Bei den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuchen am Myometrium von Rind und Ratte ruft Naloxon zwar eine stetige Zunahme der Kontraktionsfrequenz hervor, läßt aber durch die gleichzeitige Verringerung der Amplitude keine nennenswerte Steigerung der Gesamtleistung erkennen.

Das ruhende Meerschweincheniläum setzt in vitro Met-Enkephalin frei. Nach der Auslösung peristaltischer Wellen sistiert diese Opioidfreisetzung. Am Myometrium

von Rind und Ratte hingegen scheint durch die Auslösung von Spontankontraktionen der Einfluß des endogenen Opioids nicht zu sistieren, da der Effekt von Naloxon auch nach längerer Zugabe nicht nachläßt.

Allerdings zeigte Naloxon in den Untersuchungen am Verdauungstrakt einen deutlichen Effekt bereits in Konzentrationen, die um etwa drei Zehnerpotenzen niedriger liegen als in den am Myometrium verwendeten. Dies könnte auf eine relativ geringe Affinität von Naloxon zu dem im Myometrium vorhandenen Opiatrezeptor hindeuten. Der physiologische Ligand dieses Rezeptors scheint sich also relativ stark von dem entsprechenden Opioid des Verdauungstraktes zu unterscheiden.

Dieser Vergleich zwischen den Opioidwirkungen am Meerschweinchenileum und Myometrium von Rind und Ratte deutet an, daß ein opioidabhängiger Regulationsmechanismus im Myometrium des Rindes und der Ratte sich zumindest in seinen äußerlich in Erscheinung tretenden Auswirkungen von dem des Magen-Darm-Traktes des Meerschweinchens unterscheidet. Dies wäre allerdings angesichts der verschiedenen physiologischen Funktionen dieser beiden Organsysteme auch zu erwarten.

Über den zellulären Wirkungsmechanismus eines solchen Opioids lassen sich nur hypothetische Vermutungen anstellen. Morphin hemmt die Stimulation des Rattenmyometriums durch exogen zugeführtes Prostaglandin E₂ (WIDY-TYSZKIEWICZ et al., 1978).

Diesen Effekt könnte man interpretieren als eine durch das Opioid verminderte Sensibilität des Uterusmuskels gegenüber Prostaglandinen.

Ähnlich könnten endogene Opioide die "Sensibilität" gegenüber den vom Myometrium unter Dehnung freigesetzten Prostaglandinen und ihrer erregenden Wirkung herabsetzen. Dafür spräche auch die mit einer langsam einsetzenden PG-Stimulation (CORNELLY, 1981) vergleichbare Änderung des Kontraktionsbildes der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Myometriumstreifen nach Naloxonzugabe.

Im Weiteren wurde untersucht, ob Naloxon die Ansprechbarkeit des Rindermyometriums für Oxytocin beeinflusst. Bei Naloxonkonzentrationen, bei denen die rhythmische Spontanaktivität erhalten bleibt, konnten durch Oxytocin der gleiche initiale Tonusanstieg, die damit verbundene Amplitudenabnahme, und die Frequenz- und Leistungssteigerung beobachtet werden wie in reiner Nährlösung. Dies spricht dafür, daß Naloxon in diesen Konzentrationen die Oxytocinwirkung auf das Myometrium nicht beeinflusst.

Bei Naloxonkonzentrationen über 0,6 mg/ml Badflüssigkeit übertraf der Tonus- und Leistungsanstieg nach Oxytocinapplikation den Einfluß von Oxytocin auf das unbehandelte Myometrium. Jedoch ist hier zu berücksichtigen, daß durch die Hemmung der Kontraktionen bei diesen Naloxonkonzentrationen kein vergleichbares Kontraktionsmuster für die Beurteilung der Oxytocinwirkung mehr vorliegt.

Es wurde in der vorliegenden Arbeit weiterhin versucht, die von JUNG (1969) beschriebene Gewinnung eines vom gedehnten menschlichen Uterus abgegebenen Hemmstoffes am Rinderuterus nachzuvollziehen, um dann den Einfluß von Naloxon auf die Wirkung der gewonnenen Badflüssigkeit zu testen und somit einer eventuellen Beteiligung endogener Opioide nachzugehen.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Im in vitro-Versuch steigert die Zugabe von Naloxon in Konzentrationen bis 0,5 mg/ml Badflüssigkeit die Frequenz und den Grundtonus und senkt die Amplitude der durch Dehnung ausgelösten rhythmischen Spontankontraktionen des hochgraviden Myometriums von Rind und Ratte.
2. In Konzentrationen über 0,5 mg/ml Badflüssigkeit hemmt die Zugabe von Naloxon nach stetiger Frequenzzunahme und Amplitudenabnahme die Spontankontraktionen vollständig auf einem erhöhten Tonusniveau.
3. Die tonus- und frequenzsteigernde Wirkung von Oxytocin wird durch Naloxon in keiner der untersuchten Konzentrationen eingeschränkt.
4. Die Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, daß im Myometrium von Rind und Ratte gegen Ende der Gravidität Opiatrezeptoren vorhanden sind.

SUMMARY

The occurrence of opioid-receptors in the myometrium of cattle.

1. In vitro the addition of naloxone in concentrations up to 0,5 mg/ml bath fluid increases the frequency and basic tone and decreases the amplitude of the rhythmic spontaneous contractions of the term pregnant bovine and rat uterus evoked by distension.
2. At concentrations beyond 0,5 mg/ml bath fluid the addition of naloxone causes a complete inhibition of the rhythmic uterine activity, the basic tone being elevated after a continuous increase of frequency and decrease of amplitude.
3. The increase of tone and efficacy induced by oxytocin is not restricted by any of the investigated naloxone concentrations.
4. The results suggest the presence of opiate receptors in the myometrium of the term pregnant cattle and rat.

LITERATURVERZEICHNIS

- ADHAM, N. (1969): Autonomic innervation of the rat vagina, cervix and uterus and its cyclic variation.
Amer. J. Obstet. Gynec. 104, 508-516
- AKIL, H., S.J. WATSON, J.D. BARCHAS, C.H. LI (1979): β -endorphin immunoreactivity in rat and human blood: RIA, comparative levels and physiological alterations.
Life Sci. 24, 1659-1666
- BITAR, K., G. MAKHLOUF (1982): Specific opiate receptors on isolated mammalian gastric smooth muscle cells.
Nature 297, 72-74
- CLARK, S., T. SMITH (1981): Peristalsis abolishes the release of Met-enkephalin from guinea-pig ileum in vitro.
Eur. J. Pharmacol. 70, 421-424
- CORNELY, M. (1981): Zum Problem der Hemmung PG-induzierter Wehentätigkeit: Untersuchungen am isolierten Myometriumstreifen.
In: Prostaglandine in Gynäkologie und Geburtshilfe, Hepp u. Schüssler(eds.), Springer Verlag, Heidelberg, New York, 27
- CSAPO, A., J. SAUVAGE, W. WIEST (1971b): The efficiency and acceptability of intravenously administered $\text{PGF}_{2\alpha}$ as an abortifacient.
Amer. J. Obstet. Gynec. 111, 1059

- CSAPO, A. (1973): The regulatory interplay of progesterone and $\text{PGF}_{2\alpha}$ in the control of the pregnant uterus.
In: Uterine Contractions - Side effects of steroidal contraceptives. Josimovich, J. (ed.), J. Wiley Inc. USA, 223-254
- CSONTOS, K., M. RUST, V. HÖLLT, W. MAHR, W. KROMER, H. TESCHER-MACHER (1979): Elevated plasma β -endorphin levels in pregnant women and their neonates.
Life Sci. 25, 835-844
- EHRENREICH, H., M. RÜSSE, D. SCHAMS, J. HAMMERL, A. HERZ (unveröffentlicht): Opioid antagonist stimulates myometrial activity in early postpartal cows - analysis of relationship to oxytocinergic mechanisms.
- FLETCHER, J., T. THOMAS, R. HILL (1980): β -endorphin and parturition.
Lancet, 1, 310
- FURUKAWA, K., T. NOMOTO, T. TONONE (1980): Myogenic receptivity for Met-enkephalin in the rat duodenum: comparison with the guinea-pig duodenum.
Eur. J. Pharmacol. 66, 129-132
- GAUTRAY, J., A. JOLIVET, J. VIELH, R. GUILLEMIN (1977): Presence of immunoassayable β -endorphin in human amniotic fluid: elevation in cases of fetal distress.
Amer. J. Obstet. Gynec. 129, 211-212

- GENAZZANI, A., F. FACCHINETTI, D. PARRINI (1981): β -lipotropin and β -endorphin plasma levels during pregnancy.
Clin. Endocrinol. 14, 409
- GERHEISER, U. (1976): Über den Einfluß der Dehnung auf die Kontraktionen des Myometriums der Ratte in verschiedenen Stadien der Gravidität.
Med. vet. Diss., München
- GILLAN, M., D. POLLOCK (1980): Acute effects of morphine and opioid peptides on the motility and responses of rat colon to electrical stimulation.
Brit. J. Pharmacol. 68, 381-392
- GILLESPIE, J. (1962): Spontaneous mechanical and electrical activity of stretched and unstretched intestinal smooth muscle cells and their response to sympathetic nerve stimulation.
J. Physiol. (London) 162, 54-75
- GINTZLER, A., J. SCALISI (1982): Effects of opioids on non-cholinergic excitatory responses of the guinea-pig isolated ileum: inhibition of release of enteric substance P.
Brit. J. Pharmacol. 75, 199-206
- GOLAND, R., S. WARDLAW, R. STARK, A. FRANTZ (1981): Human plasma β -endorphin during pregnancy, labor and delivery.
J. Clin Endocrinol. Metab. 52, 74-78

- GRANAT, M., M. SHARF, B. WEISSMAN (1980): Humoral endorphin in human body fluids during pregnancy.
Gynecol. Obstet. Invest. 11, 214-218
- HOUCK, J., C. KIMBALL, C. CHANG, N. PEDIGO, H. YAMAMURA (1980): Placental β -endorphin-like peptides.
Science 207, 78-80
- HUGHES, J., T.W. SMITH, H. KOSTERLITZ, L. FOTHERGILL, B. MORGAN, H. MORRIS (1975): Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity.
Nature, 258, 577
- HUGHES, J., H. KOSTERLITZ, T. SMITH (1977). The distribution of met-enkephalin and leu-enkephalin in the brain and peripheral tissues.
Brit. J. Pharmacol. 61, 639-647
- HUIDOBRO-TORO, J., E. WAY (1981): Contractile effect of morphine and related opioid alkaloids, β -endorphin and met-enkephalin on the isolated colon from Long-Evans rats.
Brit. J. PHARMACOL. 74, 681-694
- JAFFE, J. W. MARTIN (1975): Narcotic analgesics and antagonists.
In: The pharmacological basis of therapeutics.
Goodman, L., A. Gilman (eds.), MacMillan Publ. & Co. Inc. New York, 245-283

- JUNG, H., F. KLÖCK (1969): Weitere Ergebnisse über einen myogenen Hemmstoff des menschlichen Uterus. *Gynaecologia* 167, 28-34
- KIMBALL, C., C. CHANG, S. HUANG, J. HOUCK (1981): Immunoreactive endorphin peptides and prolactin in umbilical vein and maternal blood. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 140, 157
- KLÖCK, F., H. JUNG (1972): Extraktion und dünnschichtchromatographische Untersuchung des "Uterushemmstoff". In: Methoden der pharmakologischen Geburtserleichterung und Uterus-Relaxation. Jung, H. (ed.), Thieme Verlag Stuttgart, 177-183
- KROMER, W., W. PRETZLAFF (1979): In vitro evidence for the participation of intestinal opioids in the control of peristalsis in the guinea-pig small intestine. *N.S. Arch. Pharmacol.* 309, 153-157
- KROMER, W., W. PRETZLAFF, R. WOINOFF (1980): Opioids modulate periodicity rather than efficacy of peristaltic waves in the guinea-pig ileum in vitro. *Life Sci.* 26, 1857-1865
- KROMER, W., W. PRETZLAFF, R. WOINOFF (1981): Regional distribution of an opioid mechanism in the guinea-pig isolated intestine. *J. Pharm. Pharmacol.* 33, 98-101

KURIYAMA, H. (1961): The effect of progesterone and oxytocin on the mouse myometrium.

J. Physiol. (London) 159, 26

LIOTTA, A., D. KRIEGER (1980): In vitro biosynthesis and comparative posttranslational processing of immunoreactive precursor corticotropin/ β -endorphin by human placental and pituitary cells. Endocrinology 106, 1504

NAKAI, Y., K. NAKAO, S. OKI, H. IMURA (1978): Presence of immunoreactive β -lipotropin and β -endorphin in human placenta.

Life Sci. 23, 2013-2018

NIJKAMP, F., J. VAN REE (1980): Effects of endorphins of different parts of the gastro-intestinal tract of rat and guinea-pig in vitro.

Brit. J. Pharmacol. 68, 599-606

PILKINGTON, J., C. NEMEROFF, G. MASON, A. PRANGE (1983): Increase in plasma β -endorphin like immunoreactivity at parturition in normal women.

Amer. J. Obstet. Gynec. 145, (1), 111-113

POYSER, N., E. HORTON, G. THOMPSON, M. LOS (1971): Identification of Prostaglandin $F_{2\alpha}$ released by distension of guinea-pig uterus in vitro.

Nature 230, 526

- PUIG, M., P. GASCON, G. CRAVISO, J. MUSACCHI (1977): Endogenous opiate receptor ligand: electrically induced release in the guinea-pig ileum. *Science* 195, 419-420
- PUOLAKKA, J., A. KAUPILLA, J. LEPPÄLUOTO, O. VUOLTEENAHO (1982): Elevated β -endorphin immunoreactivity in umbilical cord blood after complicated delivery. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 61, (6), 513-515
- RAMA, SASTRY, B., S. BARNWELL, O. TAYEB, V. JANSON, L. OWENS (1980): Occurrence of met-enkephalin in human placental villus. *Biochem. Pharmacol.* 29, 475
- RICHTER, J. (1978): Die normale Gravidität. In: Tiergeburtschilfe. Richter, J. u. R. Götze, G. Rosenberger, H. Tillmann (eds.), Parey Verlag, Berlin u. Hamburg, 3. Aufl., 81
- RISS, P., C. BIEGLMAYER (1983): Immunoreactive endorphin peptides in amniotic fluid during labour. *Brit. J. Obstet. Gynec.* 90, (1), 49-51
- ROZE, C., M. DUBRASQUET (1983): Endorphines, enképhalines et tube digestif. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 7, 177-188

- SCHEURER, U., E. DRACK, L. VARGA, F. HALTER (1981): Morphine-like action of the enkephalin analogue FK 33-824 on motility of the isolated rat colon.
J. Pharmacol. Exptl. Ther. 219, 534-539
- SCHULZ, R., M. WÜSTER, R. SIMANTOV, S. SNYDER, A. HERZ (1977a): Electrically stimulated release of opiate-like material from the myenteric plexus of the guinea-pig ileum.
Eur. J. Pharmacol. 41, 347-348
- SCHULZ, R., M. WÜSTER, A. HERZ (1977b): Detection of a long-acting endogenous opioid peptide in blood and small intestine.
Life Sci. 21, 105-116
- STEINER, L. (1972): Die Adrenozeptoren im Myometrium des Rindes.
Med. vet. Diss., München
- VAN NUETEN, J., P. JANSSEN, J. FONTAINE (1976a): Naloxone reverses inhibitory effects of fatigue and of compounds not related to narcotic analgesics in the guinea-pig ileum.
Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. (abstr.) 220, 349-350
- VAN NUETEN, J., P. JANSSEN, J. FONTAINE (1976b): Unexpected reversal effects of naloxone on the guinea pig ileum.
Life Sci. 18, 803-807

VAN NUETEN, J., J. VAN REE, P. VANHOUTTE (1977): Inhibition by met-enkephalin of peristaltic activity in the guinea-pig ileum and its reversal by naloxone.

Eur. J. Pharmacol. 41, 341-342

WATERFIELD, A., R. SMOCKUM, J. HUGHES, H. KOSTERLITZ, G. HENDERSON (1977): In vitro pharmacology of the opioid peptides, enkephalins and endorphins.

Eur. J. Pharmacol. 43, 107-116

WIDY-TYSZKIEWICZ, E., A. LUCZAK, W. GUMULKA, Z. SZRENIAWSKI (1978): Antagonism by morphine and pethidine of the contractile effects of PGE₂ on isolated uterus of the rat.

Arch. Int. Pharmacodyn. 232, 53-57

LEBENS LAUF

Am 7. September 1959 wurde ich, Regine Pflüger, als Tochter der Zahntechnikerin Brigitte Pflüger, geb. Niemann, und des Zahntechnikermeisters Georg Pflüger in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule an der Ichostraße in München von 1965 - 1969 trat ich 1969 an das städtische Theodolindengymnasium in München über, wechselte 1970 an das städtische Luisengymnasium in München und bestand dort 1977 das Abitur.

Im Wintersemester 1977/1978 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und bestand im Februar 1983 das Staatsexamen. Am 19. April 1983 erhielt ich die Approbation zur Tierärztin.

Mit der vorliegenden Arbeit beschäftige ich mich seit Oktober 1982 an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität unter Leitung von Herrn Prof. Dr. M. Rüsse.

Herrn Professor Dr. M. Rüsse danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung.

Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. S. Aldenhoff für die freundliche Hilfe bei der Lösung technischer Probleme.

